

課題番号 : F-18-KT-0185
 利用形態 : 機器利用
 利用課題名(日本語) : ナノ開口を使った生体分子間相互作用の解析
 Program Title (English) : Analysis of Biomolecules interaction using Zero Mode Waveguides
 利用者名(日本語) : 多田隈尚史, 中尾公子, 原田慶恵
 Username (English) : H. Tadakuma, K. Nakao, Y. Harada
 所属名(日本語) : 大阪大学蛋白質研究所
 Affiliation (English) : Institute of Protein Research, Osaka University
 キーワード/Keyword : ナノ開口、1分子観察、リソグラフィ・露光・描画装置

1. 概要(Summary)

金属フィルムに作製した光の波長以下の大きさのナノ開口を用いることで、数百ナノモルから数マイクロモル程度の高濃度下で蛍光色素の1分子観察が可能になる。本研究では、このナノ開口を用いた1分子イメージング法を用いて、生体分子の相互作用の1分子観察を行い、その機能を明らかにする。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置の名称】

大面積超高速電子線描画装置、厚膜フォトレジスト用スピコーティング装置、ウェハスピン洗浄装置、真空蒸着装置、超高分解能電界放出形走査電子顕微鏡

【実験方法】

石英ガラス上でのナノ開口作製の概要は Fig. 1 と箇条書きされた下記の通りである。

石英基板洗浄→脱水バーク→EB レジストコーティング→エスパーサーコーティング→EB 照射→エスパーサー除去→バーク→現像→アルミニウム蒸着→リフトオフ→プラズマクリーニング

電子線描画装置は超高精度電子線描画装置を使用した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

本年度は主にガラスや金属フィルム(アルミニウム)の表面修飾の条件検討を引き続き試みた。その結果、ガラス表面を PEG 化しつつ、アルミニウム表面を PVPA 処理可能な条件を決定できた。また、モデル蛋白質を用いて、生体試料の非特異吸着を防ぐ事を確認できた。(Fig. 2)

また、蛍光標識した DNA をナノ開口に固定する実験を行った。

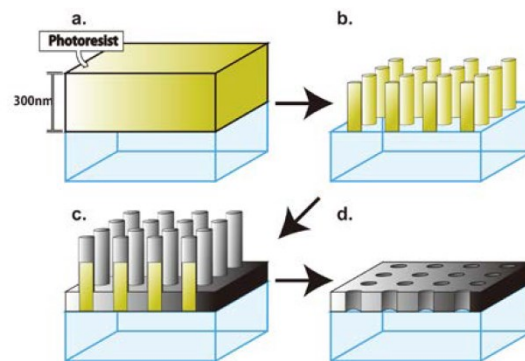


Fig. 1. Schematic diagram of Zero Mode Waveguides fabrication. (a) Photo resist coating. (b) Fabrication of the resist pattern by electron beam lithography. (c) Vapor deposition of aluminum. (d) Removal of the resist film.

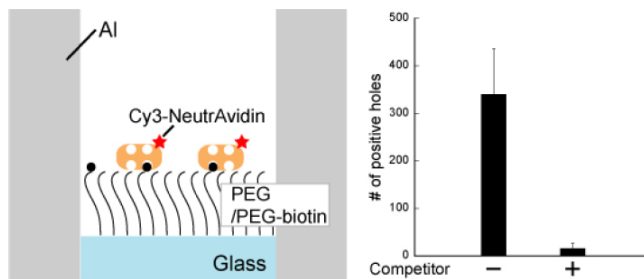


Fig. 2. PEG and PVPA ensure the specific anchoring of Cy3 labeled NeutrAvidin to the glass surface. generators.

4. その他・特記事項(Others)

・参考文献

(1) M. J. Levene et al., Science 299 (2003) 682.

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

第56回日本生物物理学会年会 2018年9月、岡山大学津島キャンパス(岡山県岡山市)ゼロモード導波路(ZMW)を用いた生体分子複合体の定量分析、中尾公子、多田隈尚史、韓龍雲、原田慶恵。

6. 関連特許(Patent) なし。